

# 三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*) 卵子发生、激活与早期卵裂的细胞学观察\*

朱冬发 王春琳 余红卫

(宁波大学生命科学与生物工程学院 宁波 315211)

**提要** 采用连续切片和光镜技术,对三疣梭子蟹卵子发生、激活和早期卵裂进行了细胞学观察。结果表明,在发育及再发育的卵巢中,三疣梭子蟹卵子发生主要经历了卵原细胞的增殖和初级卵母细胞的分化、生长、成熟这两个阶段。依据卵子发生过程中雌性生殖细胞形态的变化,这两个阶段又可细分为卵原细胞期、卵黄发生前卵母细胞期、小生长期、大生长期、近成熟卵母细胞期和成熟卵母细胞期等 6 期。成熟卵母细胞处于第一次减数分裂中期,这可作为卵子成熟的形态学标志。第一次减数分裂中期纺锤体长轴的旋转可以发生于卵巢中,与精子及海水的刺激无关。初级卵母细胞达到形态和生理上都成熟的时间窗口很窄。精子入卵引起卵子的激活和减数分裂的完成。23℃下离体培养时,第一和第二极体分别在卵产出后约 40min 和 2h 释放。雄原核的形成早于雌原核。雌、雄原核在卵产出后约 5h 通过联合形成合子核。卵产出后约 6h,受精卵处于第一次核分裂后期,但卵裂沟直到卵产出后 13h 才能观察到,此时核已完成了 2 次分裂,形成合胞体胚胎。

**关键词** 三疣梭子蟹, 卵子发生, 卵子激活, 早期卵裂

**中图分类号** Q954.43

三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* (Miers) 卵子发生过程、成熟卵母细胞激活及受精卵早期卵裂的细胞学特征的阐明,不仅将丰富蟹类发育生物学理论,而且在三疣梭子蟹雌核发育和多倍体诱导技术的建立方面更具有重要的实践指导意义。国内学者曾报道过三疣梭子蟹雌性生殖系统组织学(李太武等, 1993)、卵子发生的亚显微形态学(李太武, 1996)和胚胎发育早期的组织学(薛俊增等, 2001),但这些报道对成熟卵母细胞激活及激活后减数分裂恢复、完成的细胞学特征,尤其是核相特征和减数分裂时序,尚未予以关注、揭示。另外,由于取材的问题,薛俊增等(2001)有关成熟卵母细胞和受精卵滞育期的研究结论也有待商榷。为此,作者在已经对三疣梭子蟹受精过程进行了初步观察(朱冬发等, 2003)的基础上,进一步对发育和再发育卵巢中卵子发生的过程、

成熟卵母细胞的激活及受精卵早期卵裂等进行系统的细胞学研究,以期在三疣梭子蟹细胞遗传育种提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2002 年 3 月—2003 年 5 月,实验用三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)雌蟹购自浙江象山石浦港。其中每年 3—5 月的红膏蟹暂养于宁波市咸祥镇兴旺育苗场,用于产卵观察、人工授精和胚胎离体培养实验。

### 1.2 方法

**1.2.1 卵子发生过程的观察** 全年按月采样(头胸甲宽: 9.5—19.5cm; 体重: 52—348g),解剖取卵巢,测定卵巢指数  $OI(OI = G \times 100/B)$ ,  $G$  为卵巢重,  $B$  为体重), Bouin's 液固定,常规石蜡切片, H. E 染色, Olympus BH-2 型显微镜观察、拍照。

\* 浙江省自然科学基金资助项目, 301213 号; 浙江省重大科技攻关农业项目, 2004C12029 号; 宁波市青年基金项目, 2004A620014 号; 宁波市科技计划项目, 01N40107-2 号。朱冬发, 博士, 副教授, E-mail: zhudongfa@nbu.edu.cn

1.2.2 成熟卵母细胞激活和早期卵裂的观察 选取刚自然产出、尚未粘附于附肢内肢刚毛上的成熟卵母细胞进行人工离体培养(23 ± 0.5) °C, 辅以自然产卵、抱卵发育的卵子。取样固定始于刚产出的成熟卵, 终于卵裂期胚胎; 取样间隔时间从开始时的 1min 至卵裂期的 1h 不等。连续石蜡切片、染色和观察同上。

另取游离的未受精成熟卵放入过滤海水(盐度为 25, pH 8.2) 中离体培养, 取样、连续石蜡切片、染色和观察同上。

## 2 结果

### 2.1 卵子发生

在发育及再发育的卵巢中, 三疣梭子蟹卵子发生主要经历了卵原细胞的增殖和初级卵母细胞的分化、生长、成熟这两个阶段。根据卵子发生过程中雌性生殖细胞形态的变化, 这两个阶段又可细分为 6 个期: 卵原细胞期、卵黄发生前卵母细胞期、小生长期、大生长期、近成熟卵母细胞期和成熟卵母细胞期。

三疣梭子蟹的卵巢壁(W) (图 1a、图 1b) 很薄, 由结缔组织外膜和内生生殖上皮(GE) 构成。结缔组织中含有血管和血窦; 内生生殖上皮紧衬于外膜内侧, 系特殊的复层上皮。在性未成熟雌蟹的卵巢(图 1a) 和刚产完卵的卵巢(图 1h) 组织切片上, 可见卵巢被分隔成一个个小区, 这缘于卵巢壁向内皱褶形成的卵巢壁内突(WE)。内生生殖上皮不断地产生出两种形态、大小各异的细胞, 其中较大的一种为卵原细胞(OG), 较小的一种为滤泡细胞(FC)。卵原细胞一般近圆形; 胞核较大, 占据细胞的绝大部分, 长径为 5—6 μm, 短径约为 4 μm; 胞质稀少(图 1i)。

随着卵原细胞的增殖、分化, 在卵巢分隔小区内形成卵细胞发育区(DA)。同一卵巢不同的卵细胞发育区内, 初级卵母细胞分化时间和发育阶段并不完全相同(图 1b)。刚转化的初级卵母细胞的膨大胞核特称“生发泡”, 生发泡直径为 6.8—7.6 μm, 胞质依然稀少, 称卵黄发生前的卵母细胞(PV) (图 1c、图 1i)。

初级卵母细胞的生长可划分为小生长期和大生长期两个时期。小生长期卵母细胞(S) 呈椭圆形, 长径为 38—45 μm, 短径为 22—23 μm。其生发泡近球形, 直径为 17—22 μm, 具有 1 个或多个趋周边分布的核仁(图 1c)。小生长期卵母细胞一

个明显的细胞学特征是具有强嗜碱性的胞质, 这缘于核仁颗粒物质的外排及胞质中核糖体的剧增。核不规则的滤泡细胞(FC) 零星散落在小生长期卵母细胞间。同一卵细胞发育区内, 往往周围的卵母细胞较中央的发育快, 先转入卵母细胞的大生长期(L), 此时可见滤泡细胞(FC) 正在对卵母细胞进行分割包绕以形成滤泡结构(图 1d)。随着卵黄物质的旺盛合成与快速积累, 大生长期卵母细胞的胞质逐渐转变为嗜酸性或强嗜酸性, 近球形的卵母细胞直径逐渐从 45 μm 增大至 250 μm 左右。排卵后再发育的卵巢内快速地进行着初级卵母细胞的分化(图 1i) 和生长(图 1j), 卵巢内的残留卵母细胞(R) 发生退化, 其卵黄物质被重吸收、利用。

直径增至 250 μm 左右的初级卵母细胞胞质呈强嗜酸性; 核已失去生发泡特征, 发生皱缩, 嗜碱性增强, 核膜已破裂, 此即近成熟初级卵母细胞(NM) (图 1e)。包绕在卵母细胞外的滤泡细胞(FC) 已被挤压成极薄的单层。近成熟滤泡间有时可见新一批的小生长期卵母细胞(S) 正在发育。近成熟卵巢呈橘红色葡萄状, 卵巢指数达 12.8—15.0。形态学上, 成熟卵巢也呈橘红色葡萄状, 卵巢指数一般在 15.0 以上, 其内的成熟卵母细胞(MO) 因相互挤压而较不规则, 短径约为 235 μm, 长径可达 500 μm 以上; 胞质呈强嗜酸性; 在卵质周边的皮层区可见染色体整齐地排列在赤道板上, 表明三疣梭子蟹成熟卵母细胞处于并停留在第一次减数分裂中期(M I)。成熟卵子 M I 纺锤体长轴一般与卵质膜平行(图 1f), 但也观察到少数卵子 M I 纺锤体长轴几乎与卵质膜垂直(图 1g), 表明成熟卵母细胞 M I 纺锤体在卵巢中已开始旋转, 这种旋转与海水及精子的刺激无关。成熟卵子外具壳膜, 壳膜外包绕着单层滤泡细胞(FC), 卵周隙(PVS) 宽窄不一。成熟滤泡间有时可见新一批的小生长期卵母细胞(S) 正在发育(图 1f)。形态上成熟的卵母细胞一般并不处于游离的可流动状态, 初级卵母细胞在形态和生理上都成熟的时间窗口很窄(卵产出前约 3h 以内)。刚产出的成熟卵母细胞或近圆球形(直径约为 300 μm) 或椭圆形, 仍处第一次减数分裂中期(M I), 纺锤体长轴或与质膜平行(图 1k) 或与质膜垂直(图 1l)。雌蟹开始产卵时, 用剪刀剖开头胸甲可获取一定数量的游离的未受精成熟卵用于海水激活实验。

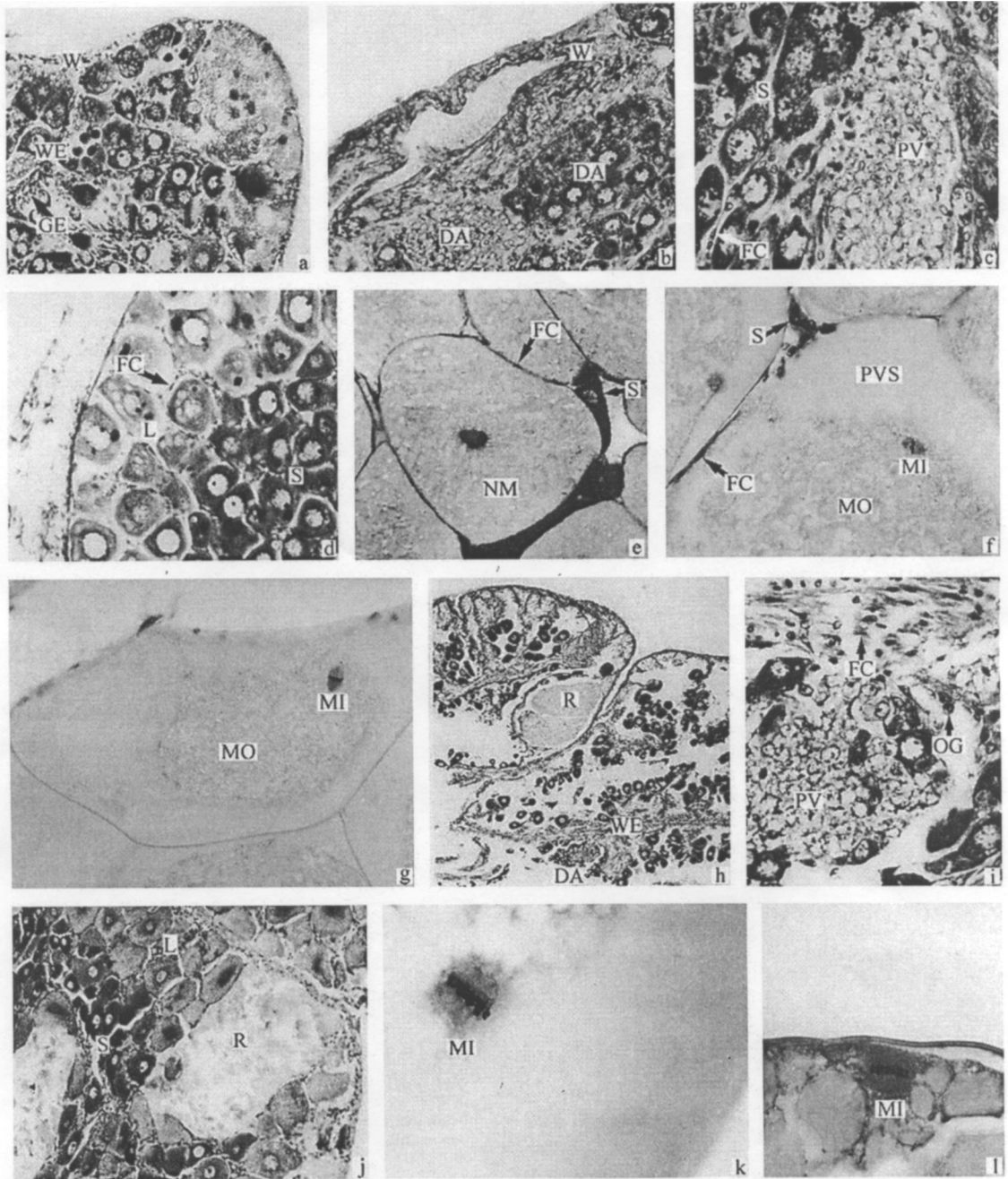


图 1 三疣梭子蟹卵子发生

Fig. 1 The oogenesis of *Portunus trituberculatus*

- a. 头胸甲宽 9.5cm 雌蟹的性未成熟卵巢, × 132;
- b. 同一卵巢内的两个发育阶段不同的卵细胞发育区, × 132;
- c. 卵细胞发育区放大, 示卵黄发生前卵母细胞, × 264;
- d. 小生长期卵母细胞和大生长期卵母细胞, × 132;
- e. 近成熟卵母细胞, × 132;
- f. 成熟卵母细胞, 示 MI 纺锤体长轴与卵质膜平行, × 264;
- g. 成熟卵母细胞, 示 MI 纺锤体长轴与卵质膜垂直, × 132;
- h. 刚产完卵的卵巢, 示卵巢壁内突、卵细胞发育区和残留卵母细胞, × 26.4;
- i. 上图卵细胞发育区放大, 示卵原细胞和卵黄发生前卵母细胞, × 264;
- j. 产卵后再发育的卵巢, × 66;
- k. 刚产出的成熟卵母细胞, 示 MI 纺锤体长轴与卵质膜平行, × 825;
- l. 刚产出的成熟卵母细胞, 示 MI 纺锤体长轴与卵质膜垂直, × 660

### 2.2 成熟卵母细胞的激活和早期卵裂

2.2.1 成熟卵母细胞的激活 形态和生理上都成熟的初级卵母细胞(OC I) 通过输卵管产出时,在输卵管后段与纳精囊内的精子接触、授精。

卵产出后约 10min, 经过精卵的相互作用, 顶体反应后精子的致密核(SN) 被拖入成熟卵质膜(PM) 下参与受精、激活(图 2a)。此时,原停留于第一次减数分裂中期的成熟卵母细胞被激活, 减

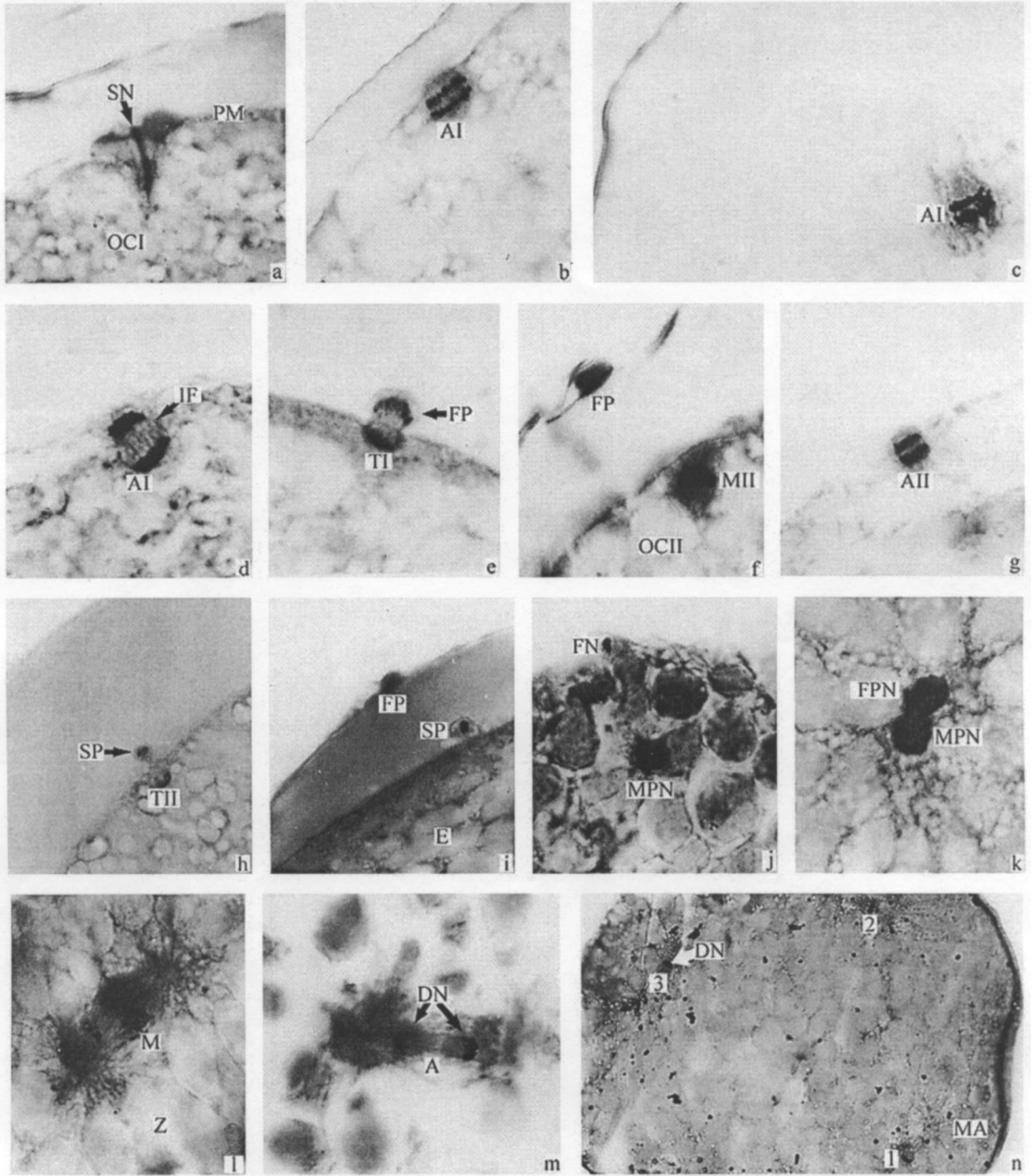


图2 三疣梭子蟹成熟卵母细胞的激活和早期卵裂

Fig. 2 The activation of mature oocytes and the early cleavage of *P. trituberculatus*

a. 精子入卵激活成熟卵母细胞, × 1000; b. 处于第一次减数分裂后期的初级卵母细胞, × 1000; c. 接触海水后被激活进入第一次减数分裂后期的初级卵母细胞, × 1000; d. 处于第一次减数分裂后期的初级卵母细胞, 示纺锤体中间丝, × 1000; e. 处于第一次减数分裂末期的初级卵母细胞, 正在释放第一极体, × 1000; f. 处于第二次减数分裂中期的次级卵母细胞, × 1000; g. 处于第二次减数分裂后期的次级卵母细胞, × 726; h. 处于第二次减数分裂末期的次级卵母细胞, 正在释放第二极体, × 700; i. 完成减数分裂的单倍体卵子和已外排的第一、第二极体, × 660; j. 雄原核和刚完成减数分裂的单倍体雌核, × 700; k. 雌、雄原核联合形成合子核, × 660; l. 处于第一次核分裂中期的合子, × 726; m. 处于第一次核分裂后期的合子, × 700; n. 出现第一次表面卵裂沟的合胞体胚胎, × 726

数分裂得以恢复, 卵母细胞处于第一次减数分裂后期(A I) (图 2b)。值得注意的是, 游离的未受精成熟卵入海水约 20min 后也能被激活进入第一次减数分裂后期(图 2b)。卵产出后 20min, 由同源染色体分开而组成的两组子染色体分别向二极移动, 两组子染色体间的中间纺锤丝(IF) 清晰可辨(图 2d)。卵产出后约 40min, 卵母细胞处在第一次减数分裂末期(T I), 外排出的子染色体组即为第一极体(FP) 的核染色体(图 2e)。再过 40min, 第一极体已位于壳膜下, 留在卵母细胞内的子染色体组, 即次级卵母细胞(OC II) 的核染色体正处于第二次减数分裂中期(M II) (图 2f)。卵产出后 1.5h, 次级卵母细胞处第二次减数分裂后期(A II), 由姊妹染色单体分开而组成的两组子染色体分别向二极移动(图 2g)。再过半小时, 次级卵母细胞进入第二次减数分裂末期(T II), 外排出的子染色体组即为第二极体(SP) 的核染色体(图 2h)。卵产出后 3.5h, 第二极体已完全外排, 位于单倍体卵子(E) 质膜之外, 未观察到第一极体(FP) 的进一步分裂(图 2i)。留在卵子内的子染色体组即为单倍体雌核(FN) 的染色体。入卵后一度观察不到的精子核此时重现并去致密, 演变为雄原核(MPN) (图 2j)。雄原核附近常可观察到星状体的发育, 据此可辨别雌、雄原核。接下来, 单倍体雌核也膨大, 演变为雌原核(FPN), 并与雄原核相互靠近。卵产出后 5h, 发育成熟的雌、雄原核通过联合的方式形成合子核(图 2k)。至此, 受精结束, 胚胎发育开始。

**2.2.2 早期卵裂** 卵产出后 5.5h, 合子(Z) 处于第一次核分裂中期(M), 位于赤道板上的合子核染色体组可清晰地分为二团, 表明两原核染色体各自形成, 进一步证实三疣梭子蟹雌、雄原核结合的方式为联合而非融合(图 2l)。半小时后, 受精卵进入第一次核分裂后期(A), 子核(DN) 已明显分开(图 2m)。值得注意的是, 尽管此时第一次核有丝分裂已经完成, 却未见第一次胞质分裂同步进行, 受精卵表面上也观察不到卵裂沟。直至卵产出后约 13h, 受精卵表面才出现浅的卵裂沟, 即进入活体观察时的第一次表面卵裂阶段, 而此时的组织切片则显示合子核已经完成了 2 次有丝分裂, 因为在受精卵切片上, 可观察到 3 个相隔较远的处于分裂后期的子核(DN) 及其单星状体(MA) (图 2n)。这时的胚胎称合胞体胚胎。

### 3 讨论

#### 3.1 成熟卵的核相

成熟卵, 即发育到能接受精子入卵完成受精的雌性生殖细胞。不同类群动物成熟卵所处的减数分裂发育时期有所不同, 绝大多数脊椎动物成熟卵处于第二次减数分裂中期(M II)。虾、蟹类成熟卵或尚未进入第一次减数分裂中期(M I 期), 如中国明对虾 *Fennerpenaeus chinensis* (蔡难儿等, 1997; 张岩等, 2000)、锯缘青蟹 *Scylla serrata* 则被认为即将进入分裂中期(上官步敏等, 1991); 或正处于 M I 期, 如中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* (Lee et al., 1989) 和日本龙虾 *Panulirus japonicus* (Minagawa et al., 1997)。有时不同研究者对同一物种成熟卵核相的研究结论也不相同。蔡难儿等(1997) 认为中国明对虾成熟卵处于第一次减数分裂间期, 张岩等(2000) 认为处于第一次减数分裂前期, 康现江等(2001) 则认为处于 M I 期。薛俊增等(2001) 在解剖镜下分离得到“核区致密, 近椭圆形, 内有一圆形核仁, 核膜不明显”的三疣梭子蟹“成熟卵母细胞”。本文作者认为该“成熟卵母细胞”值得商榷, 其核相特征更似近成熟卵母细胞(图 1e), 而不同于处在 M I 期的三疣梭子蟹成熟卵(图 1f, 图 1g)。事实上, 三疣梭子蟹成熟卵的取材比较困难。与中国明对虾卵子生理上的成熟是一瞬间之事(蔡难儿等, 1997) 相类似, 三疣梭子蟹初级卵母细胞处在形态和生理上都成熟状态的时间窗口很窄。

#### 3.2 卵母细胞的发育停滞状态及激活

动物卵母细胞的发育与成熟过程常伴有几次发育停滞状态, 如哺乳动物前期停滞的卵母细胞(停滞于第一次减数分裂前期的双线期) 和第二次减数分裂中期(M II 期) 停滞的卵母细胞。前者待个体成熟后, 在促性腺激素或其他因子的作用下才有可能恢复减数分裂; 后者则直到精子入卵或受其他人工刺激才能离开 M II 期并获得继续发育的能力(陈大元, 2000)。虾、蟹类成熟卵是另一类的发育停滞状态, 统称为第一次减数分裂中期(M I 期) 停滞的卵母细胞。对虾成熟卵母细胞的激活无需受精, 海水的刺激即可引起卵子的皮层反应及减数分裂的完成(Lynn et al., 1991; 吴长功等, 1999, 2000; Pongtipatee-Taweepreda et al., 2004)。蟹类成熟卵的海水激活迄今未见报道。

作者虽未发现海水刺激能引起三疣梭子蟹减数分裂的完成, 却观察到成熟卵入海水 20min 后能继续进行减数分裂进入 A I 期(图 2c)。精子的着卵、入卵能有效激活处于相对“休眠”状态的三疣梭子蟹成熟卵。就光镜观察而言, 三疣梭子蟹成熟卵激活的主要事件至少包括: 减数分裂的恢复; 第一和第二极体的依次排放; 精核去致密并转化为雄原核, 排放极体后的雌核演变为雌原核; 雌、雄原核的相互靠近、联合等。而薛俊增等(2001)则认为三疣梭子蟹产卵后、卵裂前的“滞育期”受精卵“核解体、消失”, “没有雌、雄原核出现, 重新出现的核为雌、雄原核的融合核”。作者认为, 二者研究结论的不同可能源于取材方法的不同, 后者“在雌蟹产卵后, 视不同发育阶段, 每隔 12、24、48h 取卵 1 次”。

### 3.3 早期卵裂

人工离体培养(23℃)时, 三疣梭子蟹受精卵于卵产出后 5.5h 进入第一次核分裂中期(图 2l); 而受精卵表面出现卵裂沟, 即进入第一次表面卵裂阶段, 要等到卵产出后约 13h, 此时核则已完成了 2 次有丝分裂(图 2n)。更值得注意的是, 第一次卵裂的时间与培养温度有密切关系。作者的初步研究表明: 20—22℃下培养时, 于卵产出后约 17.5h 开始卵裂; 17—19℃下培养时, 于卵产出后约 27h 卵裂。薛俊增等(2001)于 12—19.8℃下培养时发现受精卵于卵产出后约 52h 开始卵裂。这些都给三疣梭子蟹多倍体诱导操作起始时间和持续时间的确定带来很大困难。

### 参 考 文 献

上官步敏, 刘正琮, 李少菁, 1991. 锯缘青蟹卵巢发育的组织学观察. 水产学报, 15(2): 96—103 [Shangguan B M, Liu Z C, Li S J, 1991. Histological studies on ovarian development in *Scylla serrata*. Journal of Fisheries of China, 15(2): 96—103]

朱冬发, 王春琳, 余红卫等, 2003. 三疣梭子蟹受精过程的初步观察. 甲壳动物学论文集(第 4 辑). 北京: 科学出版社, 432—435

陈大元, 2000. 受精生物学——受精机制与生殖工程. 北京: 科学出版社, 146—169

李太武, 1996. 三疣梭子蟹卵子发生的研究. 动物学杂志, 31(5): 57—59 [Li T W, 1996. Study on oogenesis in *Portunus trituberculatus*. Chinese Journal of Zoology, 31(5): 57—59]

李太武, 苏秀榕, 张, 峰, 1993. 三疣梭子蟹雌性生殖系

的组织学研究. 辽宁师范大学学报, 16(4): 315—323 [Li T W, Su X R, Zhang F, 1993. Histology, histochemistry of the female reproductive system in blue crab *Portunus trituberculatus* (Decapoda, Portunidae). Journal of Liaoning Normal University (Natural Science), 16(4): 315—323]

吴长功, 相建海, 刘瑞玉, 1999. 中国对虾(*Penaeus chinensis*) 卵子激活过程的研究. 海洋学报, 21(4): 136—141 [Wu C G, Xiang J H, Liu R Y, 1999. Study on oocyte activation in *Penaeus chinensis*. Acta Oceanologica Sinica, 21(4): 136—141]

吴长功, 相建海, 刘瑞玉, 2000. 鹰爪虾卵子激活及卵裂的研究. 动物学报, 46(1): 64—70 [Wu C G, Xiang J H, Liu R Y, 2000. Oocyte activation and cleavage in *Trachypenaeus curvirostris*. Acta Zoologica Sinica, 46(1): 64—70]

张 岩, 王清印, 李 健等, 2000. 中国对虾受精过程的细胞学研究. 海洋水产研究, 21(2): 12—16 [Zhang Y, Wang Q Y, Li J et al, 2000. Cytological study on the fertilization process in shrimp (*Penaeus chinensis*). Marine Fisheries Research, 21(2): 12—16]

康现江, 王所安, 堵南山等, 2001. 中国对虾受精过程中精卵核的细胞学变化. 动物学报, 47(2): 182—189 [Kang X J, Wang S A, Du N S et al, 2001. Cytological changes of sperm and egg nuclei during fertilization in *Penaeus chinensis*. Acta Zoologica Sinica, 47(2): 182—189]

蔡难儿, 林 峰, 陈本楠等, 1997. 中国对虾受精生物学的研究. 海洋与湖沼, 28(3): 271—279 [Cai N E, Lin F, Chen B N et al, 1997. Biology of fertilization in *Penaeus chinensis*. Oceanologia et Limnologia Sinica, 28(3): 271—279]

薛俊增, 堵南山, 赖 伟, 2001. 三疣梭子蟹胚胎发育早期的组织学研究. 动物学研究, 22(1): 69—73 [Xue J Z, Du N S, Lai W, 2001. Studies on the histology of early embryonic development of *Portunus trituberculatus*. Zoological Research, 22(1): 69—73]

Lee T H, Yamazaki F, 1989. Cytological observations on fertilization in the Chinese freshwater crab, *Eriocheir sinensis*, by artificial insemination (*in vitro*) and incubation. Aquaculture, 76: 347—360

Lynn J W, Pillai M C, Glas P S et al, 1991. Comparative Morphology and Physiology of Egg Activation in Selected Penaeoidea. In: Deloach P, Davidson M A, Dougherty W J ed. Frontiers in Shrimp Research. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 47—64

Minagawa M, Sano M, 1997. Oogenesis and ovarian development cycle of the spiny lobster *Panulirus japonicus*

(Decapoda: Palinuridae). Mar Freshwater Res, 48: 875—887  
Pongtipatee-Taweepreda P, Chavadej J, Plodpai P *et al*, 2004.

Egg activation in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*.  
Aquaculture, 234: 183—198

## OOGENESIS, OOCYTE ACTIVATION AND EARLY CLEAVAGE OF *PORTUNUS TRITUBERCULATUS* (MIERS)

ZHU Dong-Fa, WANG Chun-Lin, YU Hong-Wei

(Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo, 315211)

**Abstract** Cytological observations were made on oogenesis, oocyte activation and early cleavage of *Portunus trituberculatus* (Miers) by tissue section technique and light microscopy. Oogenesis of developing or re-developing ovaries can be divided into two stages, the stage of oogonia proliferation, and the stage of differentiation, growth and maturation of primary oocytes. According to the size and shape of cells, and vitelline accumulation, six oogenetic substages, i. e., oogonium, previtellogenic, small growth, large growth, nearly-mature and mature, were recognized. The ovary index (*OI*) was calculated ( $OI = G \times 100/B$ , where *G* for the gonad weight; *B*, the body weight). Estimated *OI* values were greater than 15.0 in individuals with mature oocytes. The mature oocytes were in the metaphase of the first meiosis that could be regarded as the morphological marker of oocytes maturation. The rotation of the metaphase spindle in the first meiosis could be observed in the mature oocytes of ripe ovary. The rotation was irrelevant to sperm stimulation or sea-water. The physiological maturity of primary oocyte was reached during a very narrow time-span, less than 3h, before ovulation. Newly ovulated eggs were nearly spherical in shape and about 300 $\mu$ m in diameter. The newly ovulated eggs were still in the metaphase of the first meiosis, and activated to accomplish the meiosis by sperm penetration. When incubated at 23 °C, a condensed sperm nucleus came to rest beneath the plasmic membrane of egg, and the egg was in the anaphase of the first meiosis about ten minutes after ovulation. The first polar body was releasing about forty minutes after ovulation. Another 40 min later, the first polar body rested beneath egg envelope, and the egg was in the metaphase of the second meiosis. The long axis of the metaphase spindle in the second meiosis was nearly perpendicular to the plasmic membrane of egg. The second polar body was releasing about two hours after ovulation. It was not until one and a half hours later that the second polar body was entirely released. No further division occurred in the first polar body. The male pronucleus, with an aster, formed earlier than the female pronucleus did. And the female pronucleus formed from the daughter chromosome mass within egg plasm after the extrusion of the second polar body. The male and female pronucleus moved closer toward each other and matched into an association nucleus about five hours after ovulation. About 30 min later, the fertilized egg was in the metaphase of the first karyokinesis. And the anaphase of the first karyokinesis occurred about six hours after ovulation. Though the first karyokinesis had finished, no cytoplasmic division occurred synchronistically in zygote nor did any cleavage furrow appear. And a shallow cleavage furrow could be observed on the surface of the syncytial embryo with four daughter nuclei. This information would contribute to the chromosome set manipulations in *P. trituberculatus*.

**Key words** *Portunus trituberculatus*, Oogenesis, Oocyte activation, Early cleavage